

Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava

Univerzitní studijní programy

Bakalářská práce

Vliv velikosti částic a jejich přípravy na antibakteriální aktivitu

The influence of particle size and preparation method on the
antibacterial activity

Student: Mária Mackovčáková

Vedoucí práce: Ing. Karla Čech Barabaszová, Ph.D.

16.5.2016

Ostrava

Zadání bakalářské práce

Student: **Mária Mackovčáková**

Studijní program: B3942 Nanotechnologie

Studijní obor: 3942R001 Nanotechnologie

Téma: **Vliv velikosti částic a jejich přípravy na antibakteriální aktivitu**
The influence of particle size and preparation method on the antibacterial activity

Jazyk vypracování: slovenština

Zásady pro vypracování:

Cílem bakalářské práce je sledování vlivu metod přípravy, velikosti částic a jejich morfologie na antibakteriální aktivitu.

Teoretická část bakalářské práce bude řešena formou literární rešerše na téma: solochemické, mechanochemické a ultrazvukové metody přípravy nanočástic; velikostně definované částice oxidu zinečnatého a jejich základní vlastnosti; antibakteriální aktivita submikronových a nanometrických částic oxidu zinečnatého.

V rámci experimentální části budou připravené velikostně definované částice oxidu zinečnatého podrobeny strukturní a fázové charakterizaci, analýze velikosti a distribuci velikosti částic; testování a vyhodnocení antibakteriální aktivity. Testování antibakteriální aktivity bude probíhat ve spolupráci se Zdravotním ústavem se sídlem v Ostravě.

Seznam doporučené odborné literatury:

P. Singh and A. Nanda. Antimicrobial and antifungal potential of zinc oxide nanoparticles in comparison to conventional zinc oxide particles. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 5(11), 2013, 457-463.

A. Spoila, I.A. Nedelcu, D. Fica, A. Fica and E. Andronescu. Zinc based antibacterial formulations for cosmetic applications. *Journal of Nanomaterials and Biostructures* 8 (3), 2013, 1235-1242.

Y.N. Chang, M. Zhang, L. Xia, J. Zhang and G. Xing. The toxic effects and mechanisms of CuO and ZnO nanoparticles. *Materials* 5, 2012, 2850-2871.

Q. Xiao, S. Huang, J. Zhang, Ch. Xiao and X. Tan. Sonochemical synthesis of ZnO nanosheet. *Letter. Journal of Alloys and Compounds* 459, 2008, L18-L22.

D.J. Sornalatha, S. Bhuvaneswari, S. Murugesan and P. Murugakoothan. Solochemical synthesis and characterization of ZnO nanostructures with different morphologies and their antibacterial activity. *Optik* 126, 2015, 63-67.

Formální náležitosti a rozsah bakalářské práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.


Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Karla Čech Barabaszová, Ph.D.**

Datum zadání: 20.10.2015

Datum odevzdání: 16.05.2016



prof. Ing. Jaromír Pištora, CSc.
ředitel CNT



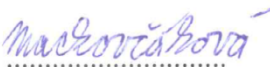
prof. Ing. Petr Noskievič, CSc.
prorektor pro studium



Prohlašuji, že

- jsem celou bakalářskou práci včetně příloh vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a uvedla jsem všechny použité podklady a literaturu,
- byla jsem seznámena s tím, že na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. – autorský zákon, zejména §35 – užití díla v rámci občanských a náboženských obřadů, v rámci školních představení a užití díla školního a §60 – školní dílo,
- беру на вѣдомі, же Высoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava (dále jen VŠB-TUO) má právo nevýdělečně ke své vnitřní potřebě bakalářskou práci užít (§35 odst. 3),
- souhlasím s tím, že jeden výtisk bakalářské práce bude uložen v Ústřední knihovně VŠB-TUO k prezenčnímu nahlédnutí a jeden výtisk bude uložen u vedoucího bakalářské práce. Souhlasím s tím, že údaje o bakalářské práci, obsažené v Záznamu o závěrečné práci, umístěném v příloze mé bakalářské práce, budou zveřejněny v informačním systému VŠB-TUO,
- bylo sjednáno, že s VŠB-TUO, v případě zájmu z její strany, uzavřu licenční smlouvu s oprávněním užít dílo v rozsahu §12 odst. 4 autorského zákona,
- bylo sjednáno, že užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití mohu jen se souhlasem VŠB-TUO, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly VŠB-TUO na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše),
- беру на вѣдомі, же оdevzdáním své práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V Ostravě : 16.5.2016


.....

Podpis

Jméno a příjmení autora práce:

Mária Macková

Adresa trvalého pobytu studenta:

ul. Jána Kollára 2455, Čadca, Slovenská republika

Prehlasujem že:

Prehlasujem, že bakalársku prácu na tému: „Vplyv veľkosti častíc a ich prípravy na antibakteriálnu aktivitu“ som vypracovala samostatne s použitím doporučenej literatúry. Týmto dávam súhlas k ďalšiemu využitiu mojej bakalárskej práce.

V Ostrave dňa: 16.5.2016

Podpis: Mačková Zora

Pod'akovanie:

Ďakujem mojej vedúcej bakalárskej práce Ing. Karle Čech Barabaszovej, Ph.D. za spoluprácu, odborný prístup a pomoc pri bakalárskej práci. Ďalej chcem poďakovať Ing. Jane Kupkovej, Ph.D. za pomoc pri vyhodnocovaní a spracovaní dát z rentgénovej difrakcie.

Abstrakt:

Cieľom bakalárskej práce je sledovanie vplyvu metód prípravy, veľkosti častíc a ich morfológie na antibakteriálnu aktivitu. Teoretická časť bakalárskej práce bude riešená formou literárnej rešerše na tému: solochemickej, mechanochemickej a ultrazvukovej metódy prípravy nanočastíc; veľkostne definované častice oxidu zinočnatého a ich základné vlastnosti; antibakteriálna aktivita submikrónových a nanometrických častíc oxidu zinočnatého. V rámci experimentálnej časti budú pripravené veľkostne definované častice oxidu zinočnatého podrobené štruktúrnej a fázovej charakterizácii, analýze veľkosti a distribúcií veľkosti častíc; testovanie a vyhodnotenie antibakteriálnej aktivity. Testovanie antibakteriálnej aktivity bude prebiehať v spolupráci so Zdravotným ústavom so sídlom v Ostrave.

Abstrakt:

Cílem bakalářské práce je sledování vlivu metod přípravy, velikosti částic a jejich morfologie na antibakteriální aktivitu. Teoretická část bakalářské práce je řešena formou literární rešerše na téma: solochemické, mechanochemické a ultrazvukové metody přípravy nanočástic; velikostně definované částice oxidu zinečnatého a jejich základní vlastnosti; antibakteriální aktivita submikronových a nanometrických částí oxidu zinečnatého. V rámci experimentální části sú připravené velikostně definované částice oxidu zinečnatého podrobeny strukturní a fázové charakterizaci, analýze velikosti a distribuci velikosti částic; vyhodnocení antibakteriální aktivity. Testování antibakteriální aktivity je realizováno ve spolupráci se Zdravotním ústavem se sídlem v Ostravě.

Abstract:

The aim of the work is monitoring impact of preparation methods particle size and morphology of the antibacterial activity. Theoretical part will be solved through literature research on the topic: solochemical, mechanochemical and ultrasonic methods for preparing nanoparticles; size-defined particles of zinc oxide and their basic characteristics; the antibacterial activity of submicron and nanometer zinc oxide particles. Within the experimental section will be prepared size-defined zinc oxide particles undergo structural and phase characterization; analysis of the size and distribution of particle size; testing and evaluation of the antibacterial activity. Testing antibacterial activity will be conducted in cooperation with the Health institute based in Ostrava.

Obsah

Úvod	1
1. Teoretická časť bakalárskej práce	2
1.1 Hydrotermálna syntéza	3
1.1.1 Solvotermálna syntéza	4
1.2 Ultrazvuková syntéza	6
1.3 Mechanochemická syntéza	7
1.4 Oxid zinočnatý	10
1.5 Antibakteriálna aktivita nanočastíc ZnO	12
1.5.1 Nanočastice ZnO v nanokompozitných materiáloch	13
2 Experimentálna časť	15
2.1 Príprava nanočastíc oxidu zinočnatého	15
2.2 Charakterizácia pripravených častíc ZnO	16
2.2.1 Rentgénová difrakčná analýza	16
2.2.2 Skenovacia elektrónová mikroskopia	20
2.2.3 Analýza veľkosti nanočastíc ZnO	23
2.2.4 Antibakteriálne testy ZnO	24
Záver	27
Literatúra	28

Úvod

Nanomateriály sa používajú na mnohé účely a v mnohých spotrebných výrobkoch od zubnej pasty po batérie, farby a odevy. Vývoj týchto nových materiálov (resp. nanomateriálov) je dôležitou hnacou silou a môžu v značnej miere prispievať k dosahovaniu pokroku v oblastiach ako medicína, ochrana životného prostredia a energetická efektívnosť. Nanomateriály alebo aj nanoštruktúrne materiály sú definované ako látky, ktorých stavebnými prvkami sú nanočastice. V posledných rokoch bol značný záujem o nanočastice kovov, kvôli ich zaujímavým vlastnostiam (optickým, elektrickým, vodivostným alebo antibakteriálnym) a potenciálu aplikácie v rôznych oblastiach. Znížením rozmeru materiálu na atómovú úroveň sa tieto vlastnosti menia, zároveň aj oblasť ich použitia.

V súčasnosti sa zvyšuje odolnosť nežiadúcich organizmov, obzvlášť baktérií, voči používaným liečivám a antibakteriálnym prostriedkom. Zvyšuje sa dopyt po nových antibakteriálnych prírodných a anorganických látkach, nastáva vývoj novej generácie liekov. Nanočastice oxidu zinočnatého sú dobrým príkladom využitia ich antibakteriálnych vlastností. Antibakteriálna aktivita je spojená s funkciou povrchu v kontakte s mikroorganizmom. Veľkosť aktívneho povrchu, ktorý poskytuje nanočastica je závislý na jej polomere.

Veľký význam v posledných rokoch zohráva na aplikačnom poli oxid zinočnatý vo forme nanočastíc. Svoje uplatnenie nanočastice oxidu zinočnatého nachádzajú pri úprave vody, modifikácii syntetických textílií, v biomedicíne, pri povrchovej úprave chirurgických nástrojov, spracovaní a balení potravín a iné.

Cieľom bakalárskej práce je sledovanie vplyvu metód prípravy, veľkosti častíc a ich morfológie na antibakteriálnu aktivitu. Teoretická časť bakalárskej práce bude riešená formou literárnej rešerše na tému: solochemickej, mechanochemickej a ultrazvukovej metódy prípravy nanočastíc; veľkostne definované častice oxidu zinočnatého a ich základné vlastnosti; antibakteriálna aktivita submikrónových a nanometrických častíc oxidu zinočnatého. V rámci experimentálnej časti budú pripravené veľkostne definované častice oxidu zinočnatého podrobené štruktúrnej a fázovej charakterizácii, analýze veľkosti a distribúcií veľkosti častíc; testovaniu a vyhodnoteniu antibakteriálnej aktivity. Testovanie antibakteriálnej aktivity bude prebiehať v spolupráci so Zdravotným ústavom so sídlom v Ostrave. V záverečnej časti budú zhrnuté výsledky bakalárskej práce.

1. Teoretická časť bakalárskej práce

Vlastnosti nanomateriálov sú ovplyvňované ich vnútornou štruktúrou, ktorá sa pohybuje v rozmedzí 10^{-7} m až 10^{-9} m. Jednou z najčastejšie využívaných skupín nanomateriálov sú nanočastice. Základnými stavebnými jednotkami sú atómy a molekuly, medzi ktorými dochádza k vzájomným interakciám. Nanočastice je možné definovať parametrami a vlastnosťami ako sú tvar, veľkosť, atómová štruktúra a chemické zloženie.[1]

Významným parametrom pri získavaní nových vlastností častíc je pomer počtu atómov na povrchu k počtu atómov vo vnútri nanočastíc – tzv. „aspect ratio”. Pričom je známe, že počet atómov na povrchu rastie so zmenšujúcim sa polomerom. Narastá teda taktiež plocha aktívneho povrchu nanočastíc. Tento parameter prispieva k získaniu nových vlastností pripravovaných nanočastíc.[1]

Pripraviť nanočastice s definovaným zložením a veľkosťou je predmetom oboru nanotechnológie. Vhodnou voľbou metódy prípravy nanočastíc (materiál, z ktorého sú nanočastice pripravované) a prostredie v ktorom sú nanočastice pripravované (ako tlak, teplota, pH, koncentrácia) ovplyvňuje vlastnosti ako sú (veľkosť častíc, funkčnosť a použitie). Zmenou vlastností prostredia dochádza aj k zmenám v materiále (veľkosť a tvar častíc).[1]

Veľkosť, tvar a distribúcia pripravených nanočastíc je závislá na rôznych vonkajších podmienkach. Prípravu a rast častíc ovplyvňuje 5 faktorov: kinetika rastu, nukleácia zárodku, koncentrácia činidiel, teplota a čas. Teplota a čas kryštalizácie materiálu sú na sebe závislé. Materiál, ktorý rýchlo zkrýštalizuje nadobúda nepravidelné tvary. U vyššej teploty dochádza k rastu kryštálov. Pomocou ovplyvňovania koncentrácií činidiel môžeme ovplyvňovať taktiež pH. Voľbou pH prostredia sa mení tvar častíc, príkladom je zmena z guľovitého tvaru na tyčinkový tvar.[1]

Príprava nanočastíc prebieha na základe 2 procesov: nukleácia a následný rast zárodkov častíc. Tento proces je veľmi rýchly. Nukleáciu môžeme rozdeliť do 2 typov na[1]:

- a) primárna homogénna – zárodky vznikajú priamo z materiálu
- b) sekundárna heterogénna – kryštalizácia prebieha na zárodkoch vyskytujúcich sa kryštálov (nečistôt, stenách nádoby) a je nežiadúca pri príprave nanomateriálu

Metódy prípravy nanočastíc podľa spôsobu prípravy[1]:

- a) fyzikálna - mletie, termický rozklad, laserová ablácia
- b) chemická - hydrolýza, hydrotermálna syntéza, zrážanie, solvochemická metóda
- c) fyzikálnochemická - sonochemická (ultrazvuková), elektrochemická

V rámci bakalárskej práce je pozornosť zameraná na tri metódy prípravy nanočastíc oxidu zinočnatého: mechanochemická, solvotermálna a sonochemická.

1.1 Hydrotermálna syntéza

Hydrotermálne procesy sa ako jedny z prvých vyvinuli v geológii za účelom syntézy minerálov. Ich všeobecný postup je založený na použití vody ako rozpúšťadla, ktorá dosahuje nadkritickú teplotu. Nadkritická teplota vody predstavuje hodnotu 374°C a tlak 22,1 MPa. Prekročením tejto hodnoty mení voda svoje vlastnosti a prechádza do superkritického stavu. Tento poznatok bol využitý pri modifikácii hydrotermálnych procesov pre prípravu/syntézu nanočastíc.[3,4,5]

Hydrotermálna syntéza prípravy nanočastíc prebieha všeobecne vo vodnom prostredí za zvýšenej teploty. U hydrotermálnej prípravy nanočastíc ZnO má významný vplyv na nanočastice koncentrácia kvapalného prekursoru (napr. roztoku NaOH) a následná teplota tepelného spracovania. Zvýšením reakčnej teploty dôjde k zväčšeniu veľkosti nanočastíc. Pri ohreve sa nanočastice buď spájajú za vytvorenia väčšej častice alebo koagulujú. Tento proces závisí od teploty teda aj od množstva Gibbsovej energie ΔG , kedy platí vzťah (1) [2]:

$$\Delta G = \frac{-K.T}{\Omega} \cdot \ln \frac{c}{c_0}, \quad (1)$$

kde c je koncentrácia prekursoru (v roztoku NaOH) a c_0 je rovnovážna koncentrácia, K je konštanta, T je teplota a Ω je atómový objem. Zvýšením koncentrácie sa zvýši Gibbsová energia. Znížením Gibbsovej energie sa dá znížiť rast častíc, pokiaľ nie je dosiahnutá minimálna energia potrebná pre stabilitu. Koncentrácia hydroxidových iónov hrá úlohu v tvare častíc a veľkosti. Po nukleácii hydroxidových iónov sa prebytok v roztoku adsorbuje na polárnych častiach rastúcich častíc a dochádza častejšie k vzniku nanočastíc vo forme nanotyčí.[2]

1.1.1 Solvotermálna syntéza

Solvotermálna syntéza je definovaná ako proces vyvolávajúci rozklad alebo chemické reakcie medzi prekursorami v prítomnosti rozpúšťadla. Táto syntéza je realizovaná za definovaného tlaku a teploty. V priebehu syntézy sú uplatňované procesy heterogénnej a homogénnej nukleácie. [3]

Solvotermálna syntéza je spôsob prípravy rôznych typov nanočastíc na bázi polovodičov, kovov, oxidov kovov, polymérov alebo keramiky. Procesom solvotermálnej syntézy je možné pripraviť materiály s rôznou geometriou: tenké filmy, sypké prášky, monokryštály a nanokryštály. Ďalším príkladom sú materiály s rôznou morfológiou: 3D - guľa, 2D - tyče, 1D - kryštálové drôty. Zmenu v morfológii vyvoláva manipulácia presýtenia rozpúšťadla, koncentráciou a kinetickou kontrolou. Táto metóda sa používa na prípravu materiálov, ktoré nie je ľahké vytvoriť bežnými postupmi. Väčšina doposiaľ použitých postupov sa zameriava na prípravu nanokryštálov.[4]

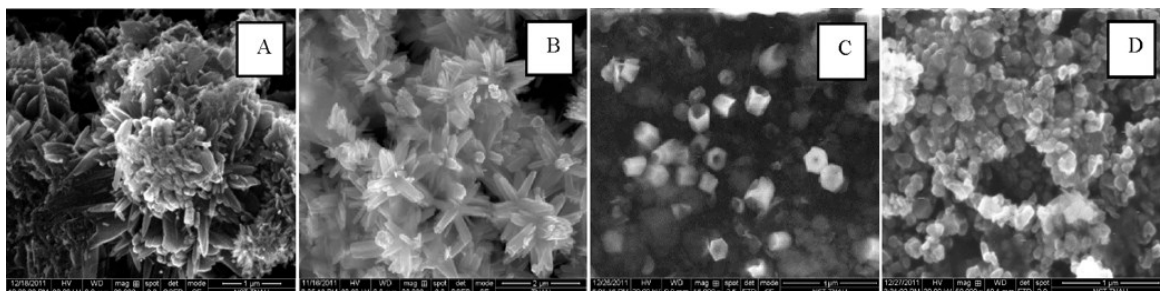
Tabuľka 1 Kľúčové faktory ovplyvňujúce solvotermálnu syntézu [3]

Faktory	Chemické	Chemická povaha rozpúšťadla a jeho fyzikálno - chemických vlastností; Chemické zloženie; Štruktúra a vlastnosti prekursorov, povaha a hodnota pH
	Termodynamické	Teplota a Tlak
	Použitie technológií	Mikrovlny; Elektrochémia; Vonkajšie magnetické pole; Ultrazvuk

Faktory ovplyvňujúce solvotermálnu syntézu sú uvedené a zhrnuté v tabuľke 1. U reakcií v kvapalnej fáze, rozpúšťadlo pôsobí rôzne na vlastnosti pripravených nanočastíc (veľkosť, tvar). Zmenou pH roztoku sa mení morfológia výsledného produktu. Vplyv reakčnej teploty, koncentrácie prekursorov a doby rastu má vplyv na vlastnosti pripraveného materiálu. Syntéza pomocou tejto metódy poskytuje veľa výhod ako sú: zisk prášku s nanometrickými rozmermi; nenáročné podmienky reakcie; zisk prášku s rôznou morfológiou.[3,6]

Produkcia ZnO solochemickou metódou zahŕňa prípravu roztokov obsahujúcich komplex zinku, ktorý je následne rozložený. Obrázok 1 vykresľuje možnú prípravu

rozmanitých tvarov ZnO. Všetky tri typy boli pripravené za zhodných podmienok solvotermálnej syntézy s rovnakým reakčným časom, avšak líšili sa prekursorami.[5,7,8].

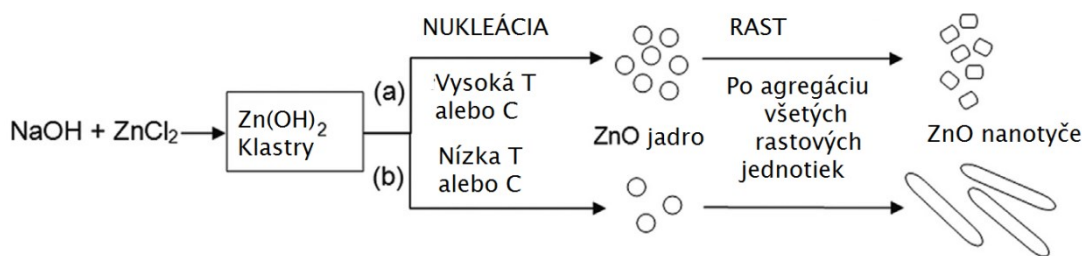


Obrázok 1 SEM obrázky rôznych tvarov ZnO: A) karfiolový, B) nanokvet, C) hexagonálny, D) sférický [7]

Na obrázku 1 sú vyobrazené pripravené rozmanité tvary ZnO. Všetky tri typy boli pripravené rovnakou metódou s rovnakým reakčným časom, avšak líšili sa prekursorami.[7]

Bolo zistené, že koncentrácia ZnCl_2 má vplyv na rast a nukleáciu ZnO. Zvýšenie koncentrácie ZnCl_2 vzhľadom k NaOH, ich vyšší pomer činidiel ako je 1:2 spôsobuje znečistenie materiálu. Výsledný materiál po zvýšení koncentrácie obsahuje navyše $\text{Zn}_5(\text{OH})_8\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. [8]

Postupné dodávanie Zn^{2+} a OH^- iónov z klastrov $\text{Zn}(\text{OH})_2$ vedie ku kontinuálnej tvorbe rastových jednotiek až do presýtenia. Následne začne nukleácia a rastové jednotky sú prevádzané do ZnO jadier. Miera nukleácie je silno ovplyvnená reakčnou teplotou. Zvýšením reakčnej teploty dochádza k zvýšeniu rýchlosti nukleácie, čo má za následok vznik menších častíc. V reakcii prebiehajúcej pri vyššej teplote (80°C) sa zvyšuje počet vytváraných jadier ZnO a znižuje sa počet rastových jednotiek. Nukleačný proces je narušený znížením koncentrácie Zn^{2+} iónov, s následným rastom častíc. K rastu dochádza prednostne v smere osi c wurtzitickej štruktúry (smer $[0001]$) za vzniku tyčových nanočastíc. V etape rastu jadro vzrástlo začlenením rastových jednotiek do kryštálovej mriežky. Avšak proces rastu prestane rýchlo, vzhľadom k malému počtu rastových jednotiek v roztoku. V dôsledku toho sa ZnO nanotyče s menším rozmerom dajú pripraviť pri vyššej reakčnej teplote. Schematické znázornenie rastu nanotyčí je uvedené na obrázku 2.[8]



Obrázok 2 Schematické znázornenie ZnO tvorby nanotyčí solvotermálnou syntézou a) vysoká T alebo C, b) nízka T alebo C [8]

1.2 Ultrazvuková syntéza

Ultrazvuková syntéza patrí k relatívne zavedenému spôsobu prípravy nanomateriálov. Podstatou tejto metódy je akustická kavitácia vyplývajúca z kontinuálnej tvorby, rastu a implozívneho zrútenia sa bublín. Bublíny kolabujú v kvapaline, čo následne spôsobuje nadmernú koncentráciu energie premenenej z kinetickej energie pohybu kvapaliny na zahrievanie obsahu bublín. Vysoká teplota a tlak s následným rýchlym ochladením poskytujú podmienky pre priebeh chemických reakcií.[9,23]

Rozpad bublín počas kavitácie slúži ako účinný prostriedok koncentrovania sa difúznej energie - stlačením plynu sa vytvára teplo. Otepľovanie je rýchlejšie ako teplotný presun, vytvára sa krátkotrvajúca horúca oblasť. Vysoká teplota a tlak poľa vznikajú v centrách bublín. Rýchlosť ochladzovania po implózii bublín predstavuje hodnotu 10^6K/s . Pri kavitácii dochádza k lokálnym prudkým zmenám vysokých teplôt a tlaku. Miestami môže teplota dosahovať až 5000K a tlak 98MPa . Tento dej môže prebiehať aj u chladných kvapalín a z chemického hľadiska ide o interakciu energie a hmoty.[9,10]

Sonochemický reaktor vo forme ultrazvukovej sonotrody s jej definovaným tvarom zapríčiňuje zosilnenie intenzity ultrazvuku. Výsledkom je vytváranie kavitačných bublín v bezprostrednej blízkosti zvukovodu. Prítomnosť bublín spôsobuje zoslabenie ožiarovania ultrazvukom. Tvar nádoby a intenzita vyžarovania ovplyvňuje pôsobenie ultrazvuku na prebiehajúcu reakciu. Intenzita vyžarovania je definovaná ako pomer elektrického príkonu k povrchu sonotrody. Intenzita dosahuje maximálne hodnoty v 2 oblastiach: na špičke sonotrody a v oblasti dostatočne vzdialenej od sonotrody.[11]

Na obrázku 3 sa nachádza názorná ukážka sonochemického reaktora s ultrazvukovou sonotrodou.[12]



Obrázok 3 Sonotroda UP100H [12]

Prípravou ZnO v kvapalnom prostredí NaOH, koncentrácia Zn(OH)_4^{2-} stúpa so zvyšujúcou sa hodnotou pH. Roztok je vystavený pôsobeniu silného ultrazvukového žiarenia, akustické polia implozívne kolabujú v roztoku, čo umožňuje vznik nanočastíc ZnO. Vysoká teplota a tlak poľa vznikajú v centrách bublín. Bolo zistené, že rast zárodkov závisí na pH prostredia. Prehľad vplyvu pH na vznik nanočastíc ZnO je uvedený v tabuľke 2.[10]

Tabuľka 2 Prehľad vplyvu pH prostredia na tvar nanočastíc ZnO [13]:

pH	Tvar nanočastíc ZnO
12,5	tyčinkový, vrstevnatý
11,5	sférický, elipsoidný
9,5	guľový

1.3 Mechanochemická syntéza

Mechanická príprava je proces pre úpravu pevného skupenstva vysoko-energetickým mletím v guľovom mlyne. Podstatou je príprava častíc s jedinečnou štruktúrou. Pri tomto procese je zmes častíc vložená do vysoko - energetického mlynu, vrátane mlecích telies (mlecie guľe). Častice sú neustále vystavované objemovým deformáciám, čo má za následok sploštenie častíc, splývanie alebo aj fragmentáciu.[14]

Mechanochemická syntéza je mlecia technika, ktorá sa používa k výrobe častíc s unikátnou štruktúrou na rozhraní kvapalnej a pevnej fáze alebo pevnej a pevnej fáze. Zaoberá sa všeobecne chemickými a fyzikálnymi premenami látok. Nevýhodou je agregácia, ktorá je zapríčinená pôsobením mechanickej energie. Táto metóda poskytuje lepšie chemické premiešanie a prípravu materiálu s menšou veľkosťou častíc. Pri nižších teplotách je možné vytvárať jednofázové materiály so skrátenou dobou prípravy.[14]

Z chemického hľadiska môžu spôsobovať vysoko - energetické impulzy chemickú aktiváciu, mechanické legovanie a reaktívne mletie pevných látok. Prvým krokom procesu je násobné praskanie častíc, čo má za následok zníženie veľkosti so zvýšením špecifického povrchu a povrchovej energie systému. Mletie môže poskytnúť taktiež zmeny v štruktúre materiálu, jeho chemickom zložení a chemickej reaktivite.[14]

Pre mechanickú prípravu nanočastíc sa najčastejšie používajú mlecie zariadenia typu: tryskový mlyn, guľový mlyn (vysokoenergetický mlyn) alebo planetárny guľový mlyn.

Tryskový mlyn je zložený z komory, po ktorej obvode sa nachádza sústava trysiek, ktoré vháňajú vztladený vzduch (poprípade iný plyn). Plyn strháva materiál a dodáva mu vysokú kinetickú energiu. Pri vírení dochádza často k zrážkam častíc s časticami alebo stenami nádoby. Častice sú následne unášané prúdom vzduchu k filtru. Účinnosť mletia ovplyvňuje okrem materiálu aj smer trysiek. Je možné zomlieť aj termolabilné materiály.[1]

Guľový mlyn má na základni umiestnenú mlecíu nádobu, v ktorej sú voľne umiestnené mlecie telesá. Minimálne tretina objemu nádoby je zaplnená guľami s rôznym priemerom a mletým materiálom. V nádobe dochádza k interakciám s nádobou a mlecími telesami, čo spôsobuje rozomieľanie. Nádoba vykonáva rôzne pohyby, ktoré spôsobujú valivý pohyb guľí po stenách. Počet otáčok guľového mlynu určuje zrnitosť rozomieľaného materiálu. Zvýšený počet otáčok má za následok zvýšenie teploty. Počas mletia jemnozrnného materiálu nie je treba príliš veľké množstvo otáčok ako u hrubozrnného materiálu. Podstatou je úprava kritickej otáčky guľového mlyna, kedy dosiahnutím určitej rýchlosti už nedochádza k odpadávaniu gule od okraja nádoby. Podľa zvoleného režimu môžeme kombinovať zmeny rýchlosti mletia. Vysokoenergetický mlyn umožňuje rýchlu a ekonomickú prípravu unikátnych a užitočných materiálov. Je možné pripraviť metastabilné fáze, amorfné zliatiny, nanokompozity, keramiku a rôzne práškové materiály.[1,14]

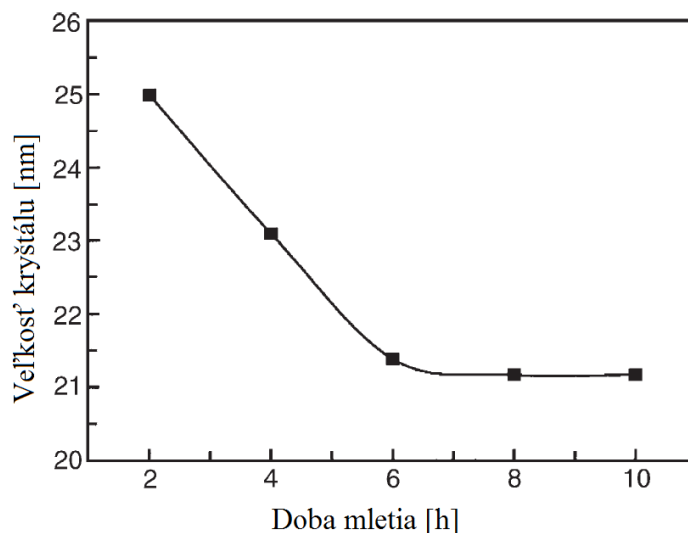


Obrázok 4 Vysokovýkonný guľový mlyn Emax [15]

Na obrázku 4 je vyobrazený vysokoenergetický typ guľového mlynu. Kombinuje výhodné vlastnosti iných mlynov: vysokofrekvenčný náraz (oscilačný mlyn), intenzívne triedenie (vibračný mlyn) a kontrolované kruhové pohyby (planetový guľový mlyn). Kombináciu týchto vlastností dovoľuje oválny tvar a pohyb mlecích nádob. Podpery nádoby sú umiestnené na dvoch diskoch, ktoré sa otáčajú v rovnakom smere. Nádoby sa pohybujú po kruhovej dráhe bez zmeny ich orientácie. Vzájomným pôsobením tvaru mlecej nádoby a pohybu je spôsobené silné trenie. K treniu dochádza medzi guľami, materiálom a stenami nádoby. Počas mletia ďalej dochádza k zrážkam guľ so vzorkou na stenách nádoby. Materiál je počas mletia dobre premiešavaný, čo má za následok približne jednotnú veľkosť častíc. Táto metóda poskytuje mletie až do nanometrov za pomerne krátky čas.[15]

Princíp planetárneho mlynu je založený na otáčavom pohybe mlecích nádob a zároveň rotácie dosky, na ktorej sú upevnené nádoby. Mlecie nádoby sú vyrobené z kvalitného materiálu a sú dobre utesnené. Nádoby a gule sa vyrábajú v závislosti na tvrdosti mletého materiálu a požadovanej čistote: porcelán, nelegovaná oceľ a achát. Smer pohybu dosky je opačný ako je u mlecích nádob. K mletiu sa využíva tiažové zrýchlenie a zároveň aj odstredivé zrýchlenie. Používa sa v prípadoch, kedy je požadovaná najvyššia jemnosť

materiálu. Jemnosť namletého materiálu závisí na rýchlosti otáčok, tvrdosti mletého materiálu, dobe mletia, počtu a veľkosti mlecích gúľ. U tohto typu mlynu sa využíva suché mletie a mletie suspenzií.[1]



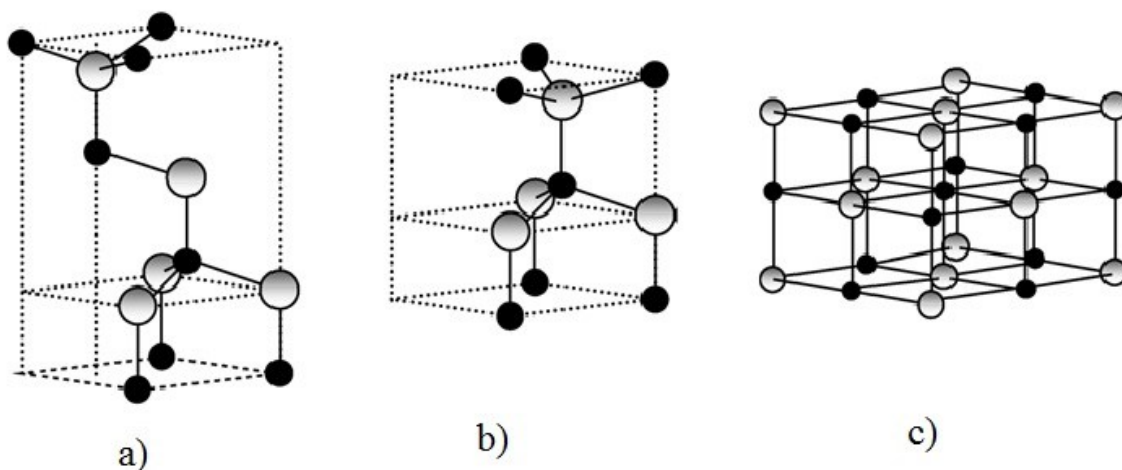
Obrázok 5 Závislosť doby mletia na pripravenej veľkosti nanočastíc ZnO [16]

Použitím roztoku NaCl ako prostredia, pridaním prekursorov ZnCl_2 a Na_2CO_3 boli pripravené nanočastice ZnO mechanochemickou syntézou pomocou planetárneho mlynu. Bolo zistené, že veľkosť pripravených častíc klesá so zvyšujúcou sa dobou mletia. Zvýšením teploty dochádza k zvýšeniu veľkosti nanočastíc ZnO z hodnoty 18nm na 36nm. Závislosť veľkosti pripravených nanočastíc ZnO na dobe mletia je uvedená na obrázku 5.[16]

1.4 Oxid zinočnatý

Oxid zinočnatý je anorganická zlúčenina, ktorá je nerozpustná vo vode s vysokou teplotou tavenia. Kryštalizuje v hexagonálnej wurtzitickej, zinkovej belobe alebo kubickej rocksalt sústave. Wurtzitická štruktúra je z týchto troch sústav najčastejšie sa vyskytujúca. Na obrázku 6 sú zobrazené kryštalové sústavy oxidu zinočnatého.[17]

Väčšina častíc ZnO sa pripravuje synteticky, ale v prírode sa vyskytuje ako minerál zinkit. Najbežnejšie sa vyskytuje vo forme bieleho prášku.[17]



Obrázok 6 Kryštálové sústavy oxidu zinočnatého: a) zinková blende (beloba), b) wurtzitická hexagonálna, c) kubická rocksalt [17]

Nanoštruktúrne ZnO materiály si získali pozornosť vzhľadom k ich využitiu v elektronike, optike a fotonike, a iných oblastiach. V minulosti sa používal ako tenký film v senzoroch, prevodníkoch a katalyzátoroch. V obore nanotechnológie je zaujímavý vďaka štúdiu jednodimenzionálnych (1D) materiálov. Zmenšením veľkosti sa zavádzajú nové elektrické, mechanické, chemické a optické vlastnosti. ZnO je polovodič a má šírku zakázaného pásu 3,37eV, čo je vhodné pre optoelektronické aplikácie s krátkou vlnovou dĺžkou.[17]

ZnO nanočastice sú výborným absorbentom pre organické zlúčeniny a niektoré ťažké kovy. Má schopnosť odrážať svetlo lepšie ako mikročastice, čo zabezpečuje jeho používanie v ochranných krémoch proti slnečnému žiareniu.[19]

Nanočastice poskytujú veľkú plochu pri interakcii molekúl s rozpúšťadlom na rozdiel od bežného materiálu. Vykazujú taktiež rýchlejšiu rozpustnosť. U nanočastíc Zn a ZnO rozpustnosť rastie so zmenšujúcim sa rozmerom častíc. V prírode nanočastice oxidu kovu existujú vo vode aj ako agregáty, poháňané dvojmocným iónom a nízkym zeta potenciálom (elektrokinetický potenciál).[19]

Povrchové vlastnosti nanočastíc môžeme ovplyvniť funkcionalizáciou pomocou funkčných molekúl. Takto upravené nanočastice majú lepšiu disperzitu vo vodných roztokoch. Ak nie je možné ovplyvňovať povrch, teda aj vlastnosti častíc, môže dôjsť k ich zhlukovaniu do väčších celkov s následnou interakciou s biomolekulami. Toto však vedie ku toxicite. Ďalším krokom je preto funkcionalizácia častíc.[19]

1.5 Antibakteriálna aktivita nanočastíc ZnO

Mikrobiálne kazenie sa kozmetických prípravkov je významné pre kozmetický priemysel. Použitie nanočastíc ZnO predstavuje sľubnú alternatívu k chemickým konzervantom. Zavedenie nanočastíc ZnO do krémov a gélov spôsobuje slnečnú a antibakteriálnu ochranu. Účinnosť závisí nielen od koncentrácie látky ale aj od modifikácie, stupňa disperzity a veľkosti častíc. ZnO nanočastice vykazujú selektívnu toxicitu voči baktériám (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus* a iné) a majú minimálny vplyv na ľudské bunky. Táto skutočnosť doporučuje ich použitie v zdravotníckom, poľnohospodárskom a potravinárskom priemysle.[18, 20]

Bolo preukázané, že antibakteriálna aktivita nanočastíc ZnO súvisí s ich veľkosťou. Menšie nanočastice vykazujú lepšiu antibakteriálnu aktivitu, vďaka ich špecifickému povrchu. Vplyvom koncentrácie nanočastíc sa mení antibakteriálna aktivita. Aktivita však je čiastočne závislá aj na tvare a kryštálovej štruktúre nanočastíc.[21]

Základnou stavebnou jednotkou baktérií je bunka. Usmrcujúce účinky nanočastíc ZnO na bakteriálnu bunku je možné vysvetliť dvoma spôsobmi[20]:

- a) generácia peroxidu vodíka z povrchu – zníženie veľkosti častíc a zvýšenie počtu nanočastíc ZnO na jednotku objemu – vedie k zvýšenej tvorbe H_2O_2
- b) Zn^{+2} ióny – tie poškodzujú bunkovú membránu a interagujú s vnútrobunkovým obsahom

Najdevastujúcejší dopad majú nanočastice na baktériu *E. coli*. Tá vykazuje zvýšenú priepustnosť membrány po vystavení ZnO častíc, ktoré boli začlenené a akumulované v bunkových membránach. Prekročením fyziologickej tolerancie ZnO nastáva toxicita.[19]

Prítomnosť ZnO zvyšuje prítomné množstvo peroxidu vodíka a hydroxylových radikálov. Znižuje množstvo hladiny molekulárneho kyslíka, glutatiónu a interleukínu. Zníženie množstva látok poskytuje signál pre protizápalové uvoľňovanie potrebných látok. Tento výsledok dokazuje možné použitie ZnO v budúcnosti pri liečbe karcinómu.[3]

1.5.1 Nanočastice ZnO v nanokompozitných materiáloch

Nanokompozitný materiál na bázi SiO_2/ZnO , kde matricou je SiO_2 v ktorej sa ZnO nachádzalo vo forme dispergovaného plniva, vykazuje antibakteriálne vlastnosti, v porovnaní s čistým ZnO sú slabšie. Antibakteriálna účinnosť voči *E. coli* sa pohybuje okolo 75 - 87%, čo závisí na postupe akým bol kompozit pripravený. Na porovnanie je u čistého ZnO táto účinnosť 100%.[22]

Oxid kremičitý bol získaný dvoma nezávislými cestami z: kremičitanu sodného a TEOS (tetraetyl ortosilikát). Oxid zinočnatý bol pripravený zrážaním dihydrátu octanu zinočnatého. Kompozit SiO_2/ZnO môže byť pripravený 2 spôsobmi[22]:

- a) sol - gel metóda s následným alkalickým zrážaním
- b) kyslé zrážanie 1M kyselinou chlorovodíkovou

Bakteriologický experiment vykonaný in vitro (umelé podmienky) preukazuje účinnosť ZnO tak dobre ako SiO_2/ZnO kompozit. Antibakteriálne účinky sú porovnané v tabuľke 3. Z tabuľky vyplýva že čistý ZnO má najlepšie antibakteriálne účinky proti *E. coli*. Kompozit SiO_2/ZnO vykazuje 75 - 87% účinnosť proti *E. coli*. Antibakteriálna aktivita SiO_2/ZnO pripraveného z TEOS je 83 - 87%. Vyššia antibakteriálna aktivita môže byť spôsobená obsahom NH_3 , čo možno vysvetliť oxo - hydroxo zlúčeninami zinku vytvorených pri vyššom pH (NaOH). Najnižšia účinnosť sa prejavuje u kompozitného materiálu pripraveného z kremičitanu sodného. To je zapríčinené zapuzdrením ZnO do siete SiO_2 . V tabuľke 2 je uvedené porovnanie antibakteriálnej aktivity materiálov voči *E. coli*. [22]

Tabuľka 3 Porovnanie antibakteriálnej aktivity materiálov na *E. coli* [22]

Poradie aktivity	Vzorka	%
1	ZnO	100
2	SiO_2/ZnO (NH_3)	87
3	SiO_2/ZnO (NaOH)	83
4	SiO_2/ZnO (kremičitan sodný)	85

Kompozit ZnO/polyester/triglycidylisokyanurát vykazuje antibakteriálnu aktivitu takmer ako čistý ZnO. Antibakteriálna aktivita je ale závislá na úprave povrchu nanočastíc ZnO a na jeho percentuálnom zastúpení v matrici. U materiálu s upraveným povrchom je antibakteriálna aktivita najlepšia. ZnO s neupraveným povrchom spôsobuje aglomerácie v matrici. Materiál s 5% zastúpením ZnO v matrici vykazuje pomerne rovnakú antibakteriálnu aktivitu voči *E. coli* ako 5% roztok ZnO.[13]

Je nutné však spomenúť taktiež antivírusový a protiplesňový charakter nanočastíc ZnO. Táto oblasť nie je príliš dobre preskúmaná. ZnO nanočastice vyvíjajú anti - HIV aktivitu v rannej fáze replikácie vírusu. Nanočastice ZnO vykazujú protiplesňovú aktivitu ale v menšom rozsahu, ako je to u antibakteriálnej aktivity. Tieto vlastnosti sú závislé na veľkosti častíc, teda čím sú nanočastice menšie, tým lepšiu protiplesňovú aktivitu vykazujú.[20]

2 Experimentálna časť

Experimentálna práca (príprava a charakterizácia nanočastíc oxidu zinočnatého) bola realizovaná v laboratóriách Centra nanotechnológií (VŠB-TU Ostrava). Antibakteriálne testy nanočastíc oxidu zinočnatého boli realizované v laboratóriách Zdravotného ústavu so sídlom v Ostrave.

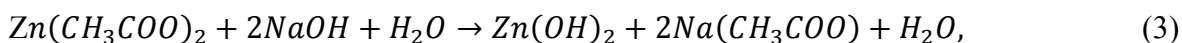
2.1 Príprava nanočastíc oxidu zinočnatého

Nanočastice oxidu zinočnatého boli pripravené solvotermálnou syntézou, mechanochemickou syntézou a sonochemickou syntézou. Pre prípravu boli použité 2 prekursor: acetát zinočnatý a chlorid zinočnatý.

Podstatou prípravy ZnO je reakcia na rozhraní kvapaliny a pevnej fáze. Kvapalinu tvoril roztok hydroxidu sodného s koncentráciou 1M, pričom bol zohriaty na 60°C. Dosiahnutím teploty 60°C bolo pridané vypočítané množstvo prekursoru. Pripravené zmesi prekursorov boli následne upravené:

- a) solvotermálne - kontinuálne homogénne miešanie na magnetickej miešačke s teplotným ohrevom na teplote $t = 60^{\circ}\text{C}$ po dobu 30 minút.
- b) mechanicky - zomleté v guľovom planetárnom dvojpozičnom achátovom mlyne s tromi achátovými guľôčkami po dobu 30 minút pri otáčkach 500 ot/min.
- c) ultrazvukom - s využitím Ti - sonotrody s frekvenciou 20kHz, 500W po dobu 30 minút.

Všeobecne je možné prebiehajúce reakcie medzi jednotlivými prekursorami popísať podľa rovníc (2,3):



Spracované vzorky boli následne vždy premyté a odstredené 4 - krát v destilovanej vode. Premytím boli odstránené vzniknuté soli. Ďalším krokom bolo sušenie (odstránenie vody) pri teplote 70°C na dobu 12-16 hodín (resp. do úplného vysušenia). Po vysušení bola hmota rozotrená v achátovej miske a vykalcinovaná pri teplotách: 350°C a 650°C po dobu 1 hodiny. Pri kalcinácii dochádza k vzniku ZnO podľa reakcie(4):



Aby bola zabezpečená prehľadnosť informácií sú histórii pripravených nanočastíc priradené označenia v tabuľke 4.

Tabuľka 4 Označenie experimentálnych vzoriek pripravených nanočastíc ZnO

Metóda prípravy	Prekurzor	Označenie	Teplota	Označenie
Solvochemická	ZnCl ₂	SA	350°C	SA 350
	Zn(CH ₃ COO) ₂	SB	650°C	SB 650
Sonochemická	ZnCl ₂	UA	350°C	UA 350
	Zn(CH ₃ COO) ₂	UB	650°C	UB 650
Mechanochemická	ZnCl ₂	MA	350°C	MA 350
	Zn(CH ₃ COO) ₂	MB	650°C	MB 650

2.2 Charakterizácia pripravených častíc ZnO

2.2.1 Rentgénová difrakčná analýza

Rentgénová difrakčná analýza sa používa k určovaniu štruktúry a fázového zloženia pevných kryštalických látok. Každá takáto látka má svoj difraktogram, ktorý slúži na jej identifikáciu. Podstatou tejto metódy je interakcia rentgenového žiarenia s elektrónmi atómu (vzorky) za pružného rozptylu. Intenzita žiarenia rozptýleného na danom atóme závisí na počte elektrónov. Tento proces popisuje Braggova rovnica (5) ako odraz rentgenového žiarenia na sekundárnych rovinách kryštálu:

$$2d \cdot \sin\theta = n \cdot \lambda, \quad (5)$$

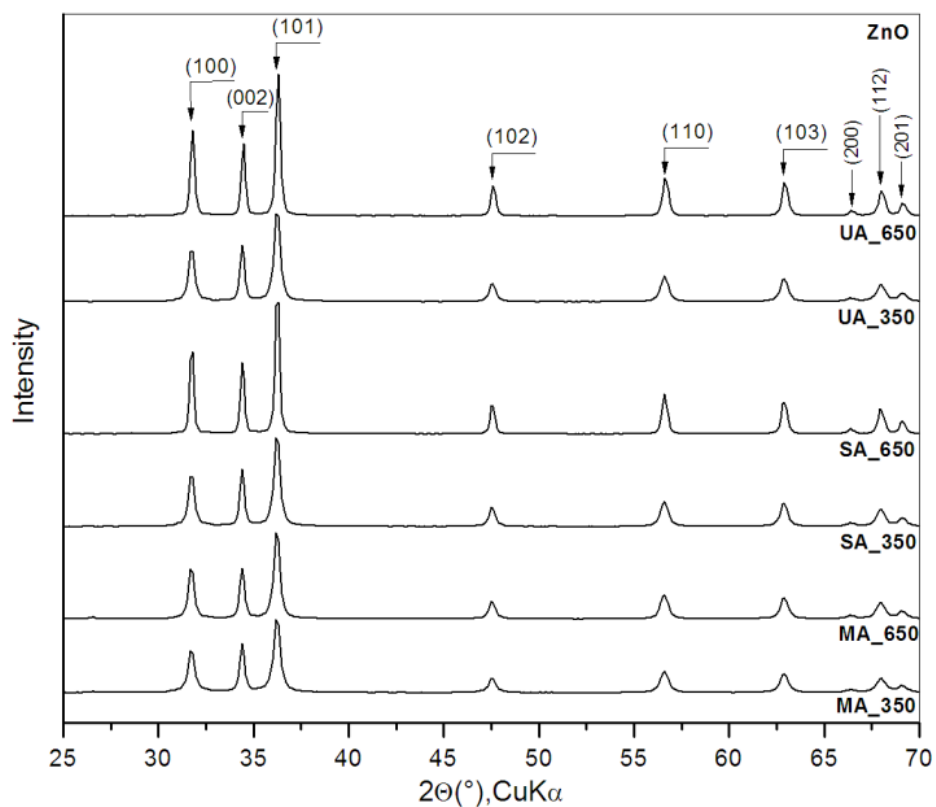
kde d je vzdialenosť jednotlivých rovín, θ je uhol, λ je vlnová dĺžka a n je fáza.

Experimentálne vzorky boli analyzované pomocou XRD difraktometru Rigaku Ultima IV s Bragg - Brentanovým usporiadaním, pri hodnotách napätia a prúdu 40 kV a 40 mA, so scintilačným detektorom. Vzorky boli merané v rozsahu 2 - 70° rýchlosťou 3,4°/min (tzn. 1200s).

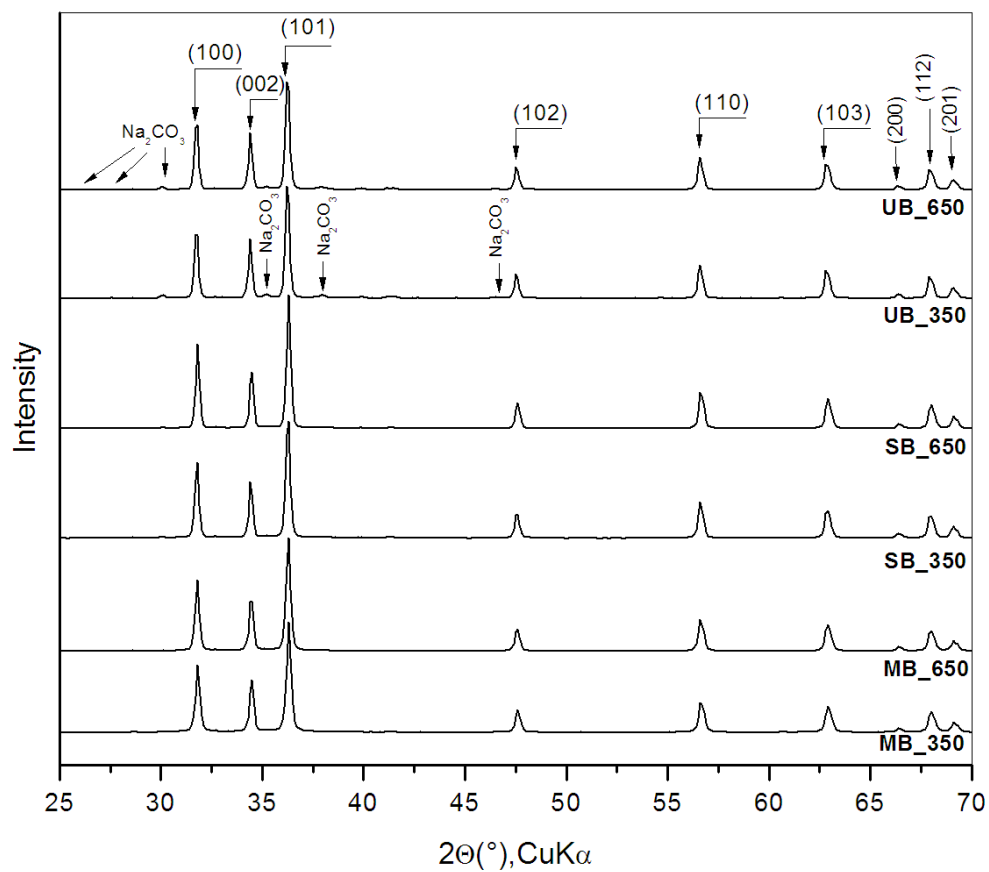
U píkovo s najvyššou intenzitou boli vypočítané veľkosti kryštalitov pomocou Debye Scherrerovej rovnice (6):

$$L = \frac{K \cdot \lambda}{B \cdot \cos\theta}, \quad (6)$$

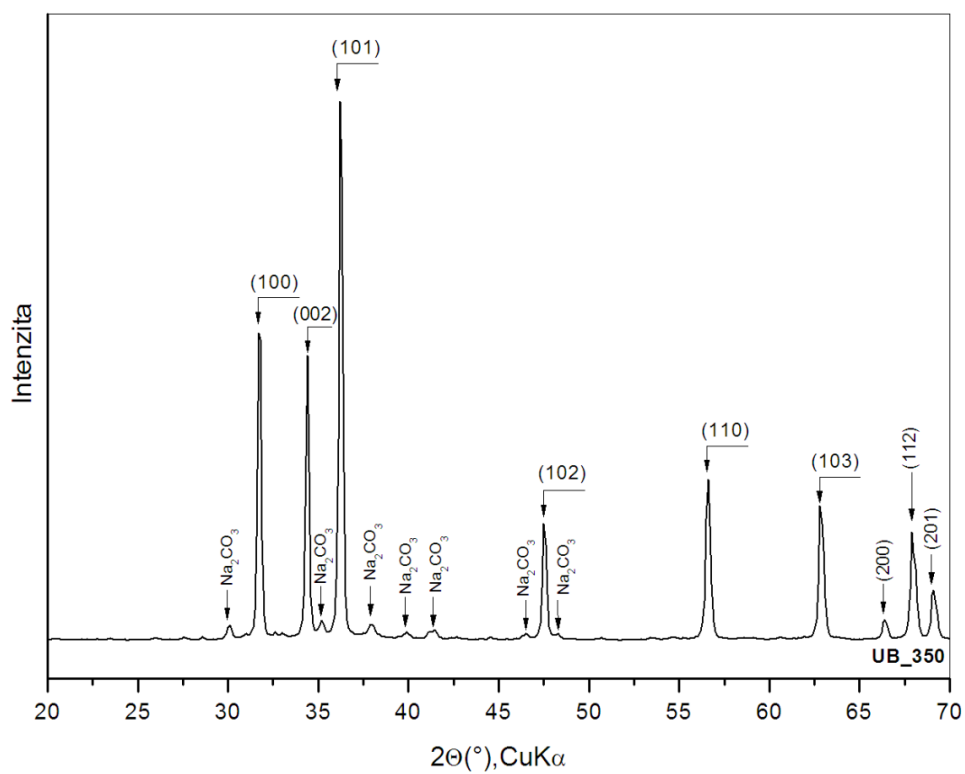
kde K (0,94) je konštanta závislá na tvare častíc, λ ($1,54 \cdot 10^{-10} \text{m}$) je vlnová dĺžka žiarenia, B je pološírka píku a θ je uhol. Zvýšením teploty došlo k viditeľnému rastu kryštálov. Výsledky veľkosti kryštáliku nanočastíc ZnO sú uvedené v tabuľke 5.



Obrázok 7 Difrakčný záznam ZnO pripraveného z prekursoru ZnCl_2



Obrázok 8 Difrakčný záznam ZnO pripraveného z prekursoru $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$



Obrázok 9 Detailný difrakčný záznam nanočastíc ZnO (UB350) pripraveného z prekursoru $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$

Na obrázku 7 je znázornený difraktogram nanočastíc ZnO pripravených z prekursoru ZnCl_2 . Bola potvrdená prítomnosť čistého ZnO. Intenzity jednotlivých pík sa zvýšili zvýšením teploty kalcinácie. Vo vzorkách MA350 a MA650 boli namerané difrakčné uhly $2\theta=36,025^\circ$ a $2\theta=36,225^\circ$, čo zodpovedá veľkosti kryštálu 23,9nm a 25,2nm. U vzoriek SA350 a SA650 boli namerané difrakčné uhly $2\theta=36,248^\circ$ a $2\theta=36,241^\circ$, zodpovedajúce veľkosti kryštálu 29,8nm a 43,1nm. Vo vzorkách UA350 a UA650 boli namerané difrakčné uhly $2\theta=36,219^\circ$ a $2\theta=36,284^\circ$, ktoré zodpovedajú veľkosti kryštálu 25,1nm a 37,2nm.

Na obrázku 8 sa nachádzajú difraktogramy nanočastíc ZnO pripravených z prekursoru $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$. Vo vzorke sa nachádzala majoritná fáza ZnO a minoritná fáza Na_2CO_3 . Táto fáza sa vyskytuje vo vzorke len v malom množstve a je možné ju detegovať len vo forme malých pík, ktoré neskôr takmer vymiznú. Ako príklad je uvedený difrakčný záznam UB350 na obrázku 9, ten potvrdzuje prítomnosť minoritnej fázy Na_2CO_3 .

Intenzity jednotlivých pík sa zvýšili po zvýšení teploty kalcinácie taktiež u nanočastíc ZnO pripravených z prekursoru $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$. Vo vzorkách MB350 a MB650 boli namerané difrakčné uhly $2\theta=36,249^\circ$ a $2\theta=36,264^\circ$, čo zodpovedá veľkosti kryštálu 53,8nm a 52,3nm. U vzoriek SB350 a SB650 boli namerané difrakčné uhly $2\theta=36,237^\circ$ a $2\theta=36,232^\circ$, ktoré zodpovedajú veľkosti kryštálu 48,5nm a 69,9nm. Vo vzorkách UB350 a UB650 boli namerané difrakčné uhly $2\theta=36,212^\circ$ a $2\theta=36,221^\circ$, čo zodpovedá veľkosti kryštálu 51,6nm a 50,5nm.

Tabuľka 5 Vypočítané veľkosti kryštálov ZnO pripravené 3 rôznymi metódami

Vzorka	Veľkosť kryštálov [nm]	Vzorka	Veľkosť kryštálov [nm]
MA350	23,9	MB350	53,8
MA650	25,2	MB650	52,3
SA350	29,8	SB350	48,5
SA650	43,1	SB650	69,9
UA350	25,1	UB350	51,6
UA650	37,2	UB650	50,5

V tabuľke 5 sú zhrnuté veľkosti kryštálov pripravených vzoriek nanočastíc ZnO na spôsobe prípravy a teplote kalcinácie. Zvýšením teploty kalcinácie je pozorovaný u vzoriek

MA, SA, UA, SB nárast veľkosti kryštálov. U vzoriek MB a UB pozorujeme menšie kryštality pri vyššej teplote kalcinácie, čo je spôsobené dobrou kryštalitou už pri teplote 350°C. U nanočastíc ZnO pripravených z prekursoru chloridu zinočnatého je veľkosť kryštálu menšia ako pri použití acetátu zinočnatého.

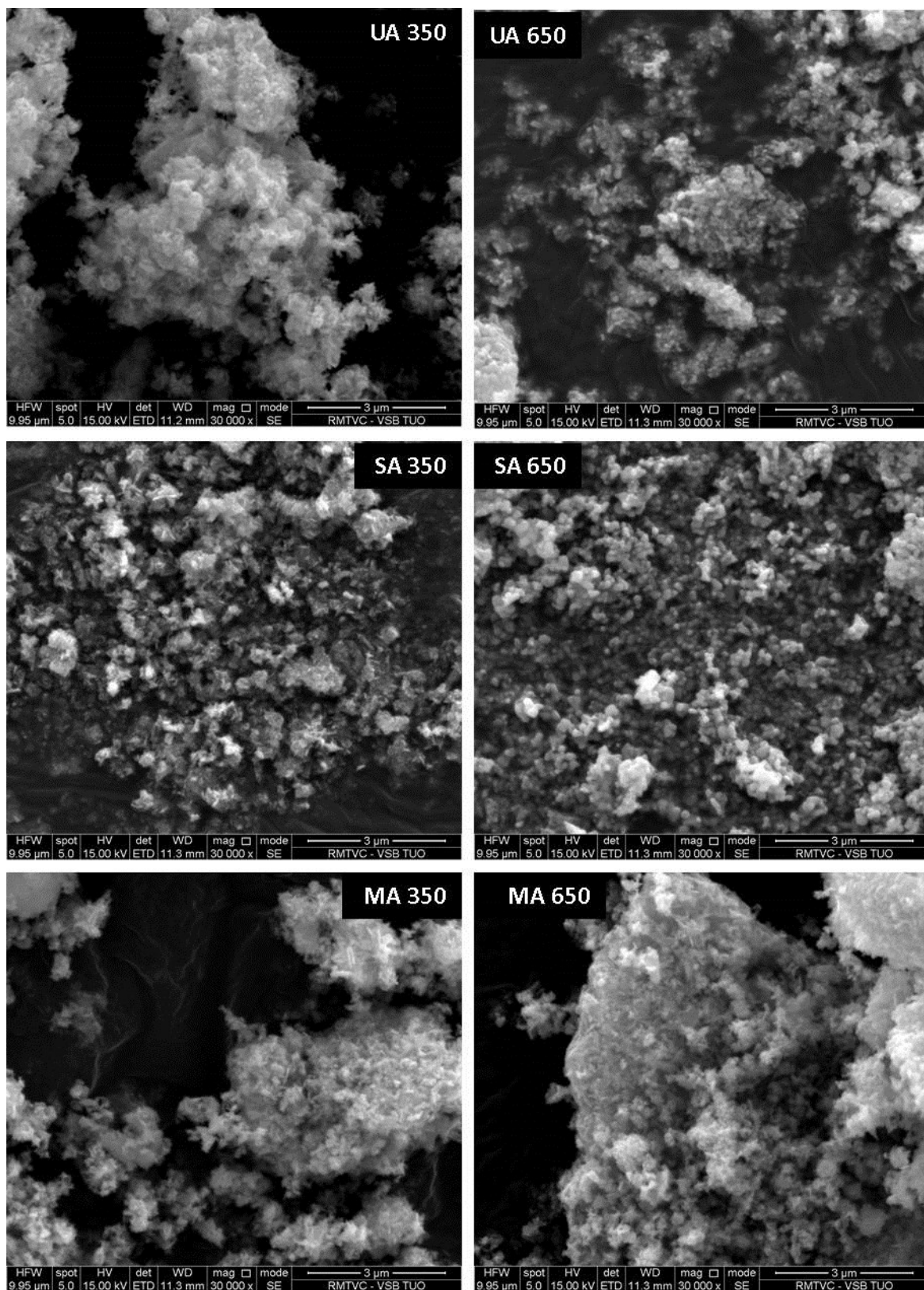
2.2.2 Skenovacia elektrónová mikroskopia

Pomocou elektrónového mikroskopu je možné sledovať vzorky s väčšou rozlišovacou schopnosťou ako u svetelných mikroskopov. Elektrónový mikroskop udáva informácie o povrchu vzorky. Podstatou tejto metódy je osvetlenie vzorky prúdom urýchlených elektrónov. Vzniknutý obraz sa vytvára pomocou odrazených alebo sekundárnych elektrónov.

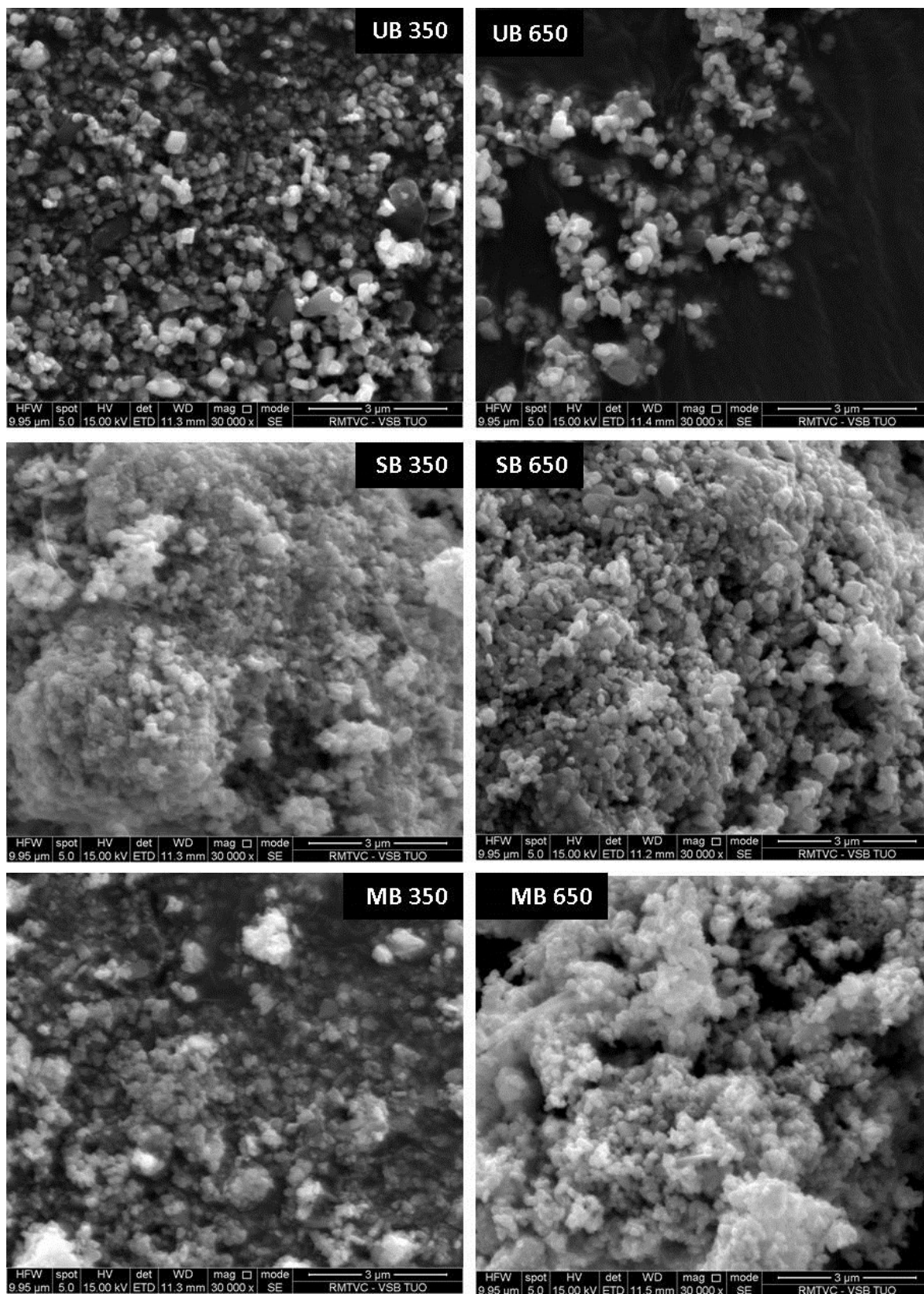
Morfológia (tvar) pripravených nanočastíc oxidu zinočnatého bola charakterizovaná pomocou skenovacieho elektrónového mikroskopu Quanta 450 FEG (FEI) s využitím detektoru sekundárnych elektrónov. Pred charakterizáciou boli nanočastice ZnO naprášané vrstvou zlata z dôvodu zvodivostnenia povrchu. Jednotlivé morfológie nanočastíc ZnO sú uvedené na obrázkoch 10 a 11.

Na obrázku 10 pozorujeme vzniknuté nanočastice ZnO z prekursoru chloridu zinočnatého. K veľkým aglomeráciám dochádzalo u vzoriek nanočastíc MA a UA. Najmenšie aglomerácie sú pozorované u vzoriek SA. V prípade SA dochádza pri zvýšenej teplote kalcinácie k zvýrazneniu hexagonálnej štruktúry. Pri zvýšenej teplote kalcinácie došlo u vzoriek MA350 a MA650 došlo naopak k nárastu nanočastíc.

Obrázok 11 vykresľuje vzniknuté nanočastice ZnO z prekursoru acetátu zinočnatého. Najmenšie aglomerácie a najmenšie nanočastice sú pozorované u vzoriek pripravených ultrazvukovou syntézou. K veľkým aglomeráciám dochádzalo u vzoriek nanočastíc MB a SB. U častíc s aglomeráciou bola ich celková veľkosť častíc najväčšia. Vo vzorkách UB350a UB650 sa vyskytuje hexagonálna štruktúra nanočastíc ZnO, vo vzorkách SB, MB pozorujeme túto štruktúru až pri vyššej teplote kalcinácie.



Obrázok 10 SEM snímky pripravených častíc oxidu zinočnatého pripraveného z prekursoru chloridu zinočnatého



Obrázok 11 SEM snímky pripravených častíc oxidu zinočnatého pripraveného z
prekurzoru acetátu zinočnatého

Porovnaním obrázkov 10 a 11 bolo zistené, že najmenšie nanočastice ZnO boli pripravené pomocou ultrazvukovej a solvotermálnej syntézy z oboch prekursorov. Najmenšie nanočastice boli pripravené solvotermálnou syntézou z prekursoru chloridu zinočnatého a ultrazvukovou syntézou z prekursoru acetátu zinočnatého. K najväčším aglomeráciám dochádzalo u vzoriek nanočastíc ZnO pripravených mechanochemickou metódou.

2.2.3 Analýza veľkosti nanočastíc ZnO

Analýza veľkosti častíc oxidu zinočnatého bola uskutočnená pomocou prístroja HORIBA Laser Scattering Size Distributor Analyzer LA-950. Meranie distribúcie veľkosti častíc prebieha na princípe rozptylu laserového žiarenia na časticách v kvapalnom médiu - vode, ktorá kontinuálne cirkuluje s experimentálnou vzorkou prietokovou celou. Na meraných časticách difragujú dva laserové zväzky - modrý a červený. Informácie o veľkosti, tvare častíc sú obsiahnuté v difrakčnom zázname, odtiaľ sú pomocou Fourierovej transformácie prevedené do distribučnej krivky numerických hodnôt.

Pre analýzu veľkosti častíc bola pripravená vodná suspenzia destilovanej vody pripravených častíc oxidu zinočnatého. Referenčná časť každej vzorky bola napipetovaná do analyzátoru. Z dôvodu deaglomerácie častíc bolo pred každým meraním využité ultrazvukové pôsobenie po dobu 10 sekúnd. Pre charakterizáciu veľkosti častíc ZnO boli využité priemerné hodnoty: mean (d_{43}), median (d_{50}) a mode (d_m). Presnosť merania bola sledovaná pomocou hodnoty span. Jednotlivé výsledky analýzy veľkosti častíc sú uvedené v tabuľke 6.

Najmenšie častice ZnO boli pripravené pomocou ultrazvukovej syntézy z oboch typov prekursorov. Priemerná mediánová hodnota veľkosť pripravených častíc oxidu zinočnatého predstavuje hodnotu $5,05\mu\text{m}$. Hodnoty span, ktoré sa pohybovali v rozmedzí 1,31 – 14,51 vypovedali o aglomeráciách častíc ZnO. So zvyšujúcou sa span hodnotou vzrastá miera aglomerácie, čo je v zhode so SEM snímkami (obr. 10 a 11). Hodnoty span nadobudli najväčšie hodnoty u vzoriek MA 650, MB 350, MB650 a SA650. Zvýšením teploty kalcinácie došlo u väčšiny vzoriek k zmenšeniu priemerných veľkostí častíc. Avšak u vzorky MA došlo k ich nárast súčasne s hodnotou span (14,51). Táto skutočnosť je zapríčinená silnou aglomeráciou častíc, ktorá sa taktiež prejavila vysokou hodnotou $d_{43}=42,49\mu\text{m}$.

Tabuľka 6 Veľkosti pripravených častíc ZnO

Vzorka	d ₅₀	d ₄₃	d _m	span
	[μm]			[-]
UA 350	3,07	3,3	3,64	1,67
UA 650	0,93	1,36	1,07	3,26
SA 350	7,93	19,27	12,4	2,98
SA 650	2,94	5,76	10,83	5,12
MA 350	5,14	6,16	7,21	2,41
MA 650	8,79	42,49	5,48	14,51
UB 350	2,53	2,65	2,78	1,31
UB 650	1,88	2,57	2,12	3,06
SB 350	10,15	12,35	18,5	2,47
SB 650	4,27	6,24	5,49	2,64
MB 350	6,61	16,64	14,19	6,28
MB 650	6,37	19,28	14,13	7,95

2.2.4 Antibakteriálne testy ZnO

Antibakteriálne testy pripravených vzoriek boli vykonané v Zdravotnom ústave so sídlom v Ostrave. Tieto vzorky boli z dôvodu známeho antibakteriálneho účinku testované výhradne na bakteriálnom kmeni *Escherichia coli* CCM 3954 (ďalej len *E. coli*). Vstupnou koncentráciou bakteriálneho kmeňa (denzita suspenzie) bola 1,1.10⁹ CFU ml⁻¹. CFU (angl. Colony Forming Unit) predstavuje počet živých jednotiek baktérií v kolónii. Antibakteriálne testy boli na týchto baktériách realizované pri rôznych koncentráciách (MIC) pripravených vzoriek: 10; 3,33; 1,11; 0,37; 0,12; 0,041 a 0,014 mg/ml. Vzorky boli testované po dobu 30, 60, 90, 120, 180, 240 a 300 min, 1, 2, 3, 4 a 5 - tich dní. Výsledky sú uvedené v tabuľke 7.

Z experimentálnych výsledkov antibakteriálnych testov uvedených v tabuľke 7 vyplýva, že antibakteriálna aktivita sa prejavila najrýchlejšie u vzorky MB350 po dobe expozície 180 minút. Vzorka MB650 vykazuje antibakteriálnu aktivitu po dobe pôsobenia 300 minút.

Antibakteriálna aktivita sa výrazne prejavila po 1. dni expozície u všetkých vzoriek. Najvýraznejšia však bola u UA650, SA350, SA650, UB350, UB650 a MB350, kedy koncentrácia baktérií bola nižšia ako (MIC) 0,12 mg/ml.

Po 2. dni expozície vykazujú vysokú antibakteriálnu aktivitu vzorky UA650, SA350, SA650, MA350, MA650, UB350, UB650, SB650, MB350 a MB650. U vzoriek MA350, UB650 a MB650 došlo k zvýšeniu antibakteriálnej aktivity oproti 1. dňu.

Po 2. dni do doby 5. dňa dochádzalo k zvýšeniu antibakteriálnej aktivity u vzoriek UA350, UA650, SA650, MA350, MA650, SB350, SB650, MB350 a MB650. U vzoriek SA350 a UB350 ostala antibakteriálna aktivita rovnaká ako po 2. dni expozície. Antibakteriálna aktivita bola u vzorky SB350 najnižšia.

U vzoriek pripravených z prekursoru chloridu zinočnatého sa vyskytovala najvyššia antibakteriálna aktivita. Veľkosť kryštalu je u týchto častíc najmenšia.

Tabuľka 7 Antibakteriálna aktivita nanočastíc ZnO na E. coli v závislosti na čase expozície v porovnaní s veľkosťou kryštálu a veľkosťou častíc

d ₅₀ [μm]	Veľkosť kryštálu [nm]	Vzorka	30 min	60 min	90 min	120 min	180 min	240 min	300 min	1 den	2 den	3 den	4 den	5 den
			MIC [mg/ml]											
3,07	25,1	UA 350	>10	>10	>10	>10	>10	>10	10	3,33	3,33	0,041	0,041	0,041
0,93	37,2	UA 650	>10	>10	>10	>10	>10	>10	10	0,12	0,12	0,041	0,041	0,041
7,93	29,8	SA 350	10	10	10	10	>10	>10	>10	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
2,94	43,1	SA 650	>10	10	10	10	>10	>10	>10	0,12	0,12	0,041	0,041	0,041
5,14	23,9	MA 350	10	10	10	10	10	10	10	0,37	0,12	0,041	0,041	0,041
8,79	25,2	MA 650	10	10	10	10	10	10	10	3,33	0,12	0,041	0,041	0,041
2,53	51,6	UB 350	10	10	10	10	>10	>10	>10	0,12	0,12	0,12	0,12	0,041
1,88	50,5	UB 650	>10	10	10	10	10	10	10	0,12	0,041	0,041	0,041	0,041
10,15	48,5	SB 350	10	10	10	10	10	10	10	1,11	1,11	0,37	0,37	0,37
4,27	69,9	SB 650	10	10	10	10	10	10	10	0,37	0,37	0,12	0,041	0,041
6,61	53,8	MB 350	10	10	10	10	3,33	3,33	3,33	0,12	0,12	0,041	0,041	0,041
6,37	52,3	MB 650	10	10	10	10	10	10	3,33	0,37	0,12	0,12	0,12	0,12

Záver

V rámci bakalárskej práce boli pripravené nanočastice oxidu zinočnatého (ZnO) tromi rôznymi metódami z dvoch rôznych prekursorov. Pripravené ZnO boli následne charakterizované pomocou: rentgénovej difrakčnej analýzy, SEM analýzy a distribúcie veľkosti častíc. Boli hodnotené ich antibakteriálne vlastnosti v závislosti na veľkosti častíc a metóde prípravy. Z výsledkov bakalárskej práce vyplývajú nasledujúce závery:

- Z prekursoru chloridu zinočnatého boli pripravené čisté nanočastice ZnO, zatiaľ čo u prekursoru acetátu zinočnatého bola zistená prítomnosť minoritnej fázy Na_2CO_3 .
- Najmenšie častice oxidu zinočnatého ($3,07\mu\text{m}$ s kryštálitom $25,1\text{nm}$) boli pripravené z chloridu zinočnatého ultrazvukovou syntézou a teplotou kalcinácie 350°C .
- U všetkých vzoriek sa prejavovala vysoká antibakteriálna aktivita po 1. dni ($\text{MIC} < 3,33 \text{ mg/ml}$).
- U nanočastíc pripravených z prekursoru chloridu zinočnatého bola antibakteriálna aktivita takmer u všetkých vzoriek vysoká už po 3. dni.
- Nanočastice oxidu zinočnatého pripravené ultrazvukovou syntézou majú najmenšie rozmery a vykazujú najlepšie antibakteriálne výsledky, kedy koncentrácia baktérií bola nižšia ako (MIC) $0,041 \text{ mg/ml}$.

V rámci experimentálnej práce bolo zistené, že výsledná veľkosť kryštálov a veľkosť nanočastíc oxidu zinočnatého je ovplyvnená metódou prípravy a typom zvoleného prekursoru. Bola potvrdená a vyhodnotená antibakteriálna aktivita nanočastíc oxidu zinočnatého na baktérii *E. coli*. V závislosti veľkosti nanočastíc oxidu zinočnatého bol sledovaný vplyv postupného a dlhotrvajúceho antibakteriálneho účinku.

Bakalárska práca bola vypracovaná za finančnej podpory projektu SP2016/49 “Velikostně a koncentračně závislé nanostrukturované materiály”.

Literatúra

- [1] Barabaszová Č. K., Příprava nanočástic z pevného prostředí- Mechanická příprava nanočástic. Prednáška v rámci predmetu : Nanotechnologie II- Metody, 23.3.2015.
- [2] Jyoti M., et al., To study the role of temperature and sodium hydroxide concentration in the synthesis of zinc oxide nanoparticles. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 2013, 3.11. ISSN 2250-3153.
- [3] Demazeau G., Solvothermal Processes: Definition, Key Factors Governing the Involved Chemical Reactions and New Trends, *Zeitschrift für Naturforschung B*, 2010, 65.8: 999-1006.
- [4] Gersten, B., Solvothermal synthesis of nanoparticles, *Chemifiles*, 2005, 5: 11-12.
- [5] Zychová M. et al., Vlastnosti a použití superkritické vody, *Chemické listy*, 2013, 113: 126-135.
- [6] Shailaja D., et al., Comparative studies of synthesis, stability and antibacterial activity of zinc oxide nano-particles. *International Journal of Bioassays*, 2013, 2.06: 914-917, ISSN: 2278-778.
- [7] Sornalatha D., et al., Solochemical synthesis and characterization of ZnO nanostructures with different morphologies and their antibacterial activity. *Optik*, 2015, 126, 63-67.
- [8] Gusatti M., et al., Growth of Variable Aspect Ratio ZnO Nanorods by Solochemical Processing. *Journal of Materials Science & Technology*, 2015, 31.1: 10-15.
- [9] Suslick Kenneth S., et al., Acoustic cavitation and its chemical consequences. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 1999, 357.1751: 335-353.
- [10] Qi X., et al., Sonochemical synthesis of ZnO nanosheet. *Journal of Alloys and Compounds*, 2008, 459.1: L18-L22.
- [11] Yi-Chun W., et al., Realization of cavitation fields based on the acoustic resonance modes in an immersion-type sonochemical reactor. *Ultrasonics sonochemistry*, 2013, 20.1: 565-570.

- [12] Ultrazvukový homogenizátor UP100H – Compact Ultrasonic Laboratory [online]. [cit. 2015-12-12]. Dostupné z: <https://www.hielscher.com>.
- [13] Hadavand S. B., et al., Preparation of modified nano ZnO/polyester/TGIC powder coating nanocomposite and evaluation of its antibacterial activity. *Composites Part B: Engineering*, 2015, 82: 190-195.
- [14] Martynková G. S., et al., Introduction to nanocomposite science of layered and tubular materials: Methods and fillers, Introduction to nanocomposite science of layered and tubular materials: Methods and fillers
- [15] Vysoce výkonný kulový mlýn Emax [online]. [cit. 2016-04-1]. Dostupné z: <http://www.retsch.cz>
- [16] Weiqin A., et al., Mechanochemical synthesis of zinc oxide nanocrystalline. *Powder Technology*, 2006, 168.3: 148-151.
- [17] Morkoç H., et al., Zinc oxide: fundamentals, materials and device technology. *John Wiley & Sons*, 2008.
- [18] Ravishankar R. V. et al., Nanoparticles and their potential application as antimicrobials. Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances, Mendez-Vilas, A.(Ed.). *University of Mysore*, 2011, 197-209.
- [19] Ya-Nan Ch., et al., The toxic effects and mechanisms of CuO and ZnO nanoparticles. *Materials*, 2012, 5.12: 2850-2871, ISSN 1996-1944.
- [20] Singh P. et al., Antimicrobial and antifungal potential of zinc oxide nanoparticles incomparison to conventional zinc oxide particles. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2013, 5(11), 457-463.
- [21] Zhang L., et al., York D., ZnO nanofluids – A potential antibacterial agent. *Progress in Natural Science* 2008, 18 (8), 939–944.
- [22] Spoiala A., et al., Zinc based antibacterial formulations for cosmetic applications. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 2013, 8.3: 1235-1242.
- [23] Zhiwei F., et al., Parametric study of acoustically-driven microbubble cavitations in a sonochemical reactor. *Ultrasonics sonochemistry*, 2014, 21.1: 415-427.

Zoznamy

Zoznam obrázkov

Obrázok 1 SEM obrázky rôznych tvarov ZnO: A) karfiolový, B) nanokvet, C) hexagonálny, D) sférický	5
Obrázok 2 Schematické znázornenie ZnO tvorby nanotyčí solochemickou metódou a) vysoká T alebo C, b) nízka T alebo C	6
Obrázok 3 Sonotroda UP100H	7
Obrázok 4 Vysokovýkonný guľový mlyn Emax	9
Obrázok 5 Závislosť doby mletia na pripravenej veľkosti nanočastíc ZnO	10
Obrázok 6 Kryštálové sústavy oxidu zinočnatého: a) zinková blende (beloba), b) wurtzitická hexagonálna, c) kubická rocksalt	11
Obrázok 7 Difrakčný záznam ZnO pripraveného z prekursoru ZnCl_2	17
Obrázok 8 Difrakčný záznam ZnO pripraveného z prekursoru $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	18
Obrázok 9 Detailný difrakčný záznam nanočastíc ZnO (UB350) pripraveného z prekursoru $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	18
Obrázok 10 SEM snímky pripravených častíc oxidu zinočnatého pripraveného z prekursoru chloridu zinočnatého	21
Obrázok 11 SEM snímky pripravených častíc oxidu zinočnatého pripraveného z prekursoru acetátu zinočnatého	22

Zoznam tabuliek

Tabuľka 1 Kľúčové faktory ovplyvňujúce solvotermálnu syntézu	4
Tabuľka 2 Prehľad vplyvu pH prostredia na tvar nanočastíc ZnO	7
Tabuľka 3 Porovnanie antibakteriálnej aktivity materiálov na <i>E. coli</i>	13
Tabuľka 4 Označenie experimentálnych vzoriek pripravených nanočastíc ZnO	16
Tabuľka 5 Vypočítané veľkosti kryštálov ZnO pripravené 3 rôznymi metódami	19
Tabuľka 6 Veľkosti pripravených častíc ZnO	24
Tabuľka 7 Antibakteriálna aktivita nanočastíc ZnO na <i>E. coli</i> v závislosti na čase expozície v porovnaní s veľkosťou kryštálu a veľkosťou častíc	26